

## VÁLASZOK DR. MARTINEK TAMÁS BÍRÁLATÁRA

Tisztelt Bíráló!

Szeretném megköszönni, hogy elfogadta MTA doktori értekezésem bírálatát, és az abban megfogalmazott támogató véleményt. Köszönöm, hogy időt szánt az alapos átnézésére, a hasznos észrevételeit és felvetéseit.

A feltett kérdésekre pontokban válaszolok:

1. *pVI: A non-uniform sampling fordítását nem-lineáris mintavételezésnek adja meg. Ez eltér az eredeti szakkifejezés eléggé világos jelentéstartalmától. Az eltérést mi indokolja, vagy teszi lehetővé?*

Így igaz, a szó szerinti fordítás a nem egyenletes mintavételezés, de a magyar nyelvű szakirodalomban a nem lineáris mintavételezés kifejezéssel is találkozni lehet.

A jelenség hátterében a többdimenziós (2D, 3D, ...) mérések időtartamának csökkentése áll. Például egy hagyományos 2D mérés során az indirekt dimenzióban  $t1$  inkrementumban lineárisan/egyenletesen történik a mintavételezés. Az adatgyűjtés (akvizíció) során minden lineárisan inkrementált/változtatott  $t1$  értékre egy FID-et (Free Induction Decay) azaz szabad lecsengési jelet rögzítünk. Újabban mérési idő rövidítés céljából az indirekt dimenzióban a mintavételezést véletlenszerűen (vagy súlyozottan véletlenszerűen) ritkítjuk, azaz nem lineárisan, vagy nem egyenletesen. Végiggondolva, a „nem egyenletesen” megnevezés a helyesebb.

2. *p5: A 2D CON mérésnél hogyan lehetséges intermolekuláris korrelációt kimutatni? Hidrogén -kötésen keresztül lenne akkora csatolás? Vagy itt valójában aminosavmaradékok közötti korrelációról van szó?*

Köszönöm az észrevételt, itt elírás történt. A  $^{13}\text{C}$  detektált CON mérésben aminosavmaradékok közötti  $\text{CO}(i) - \text{N}^{\text{H}}(i+1)$  korrelációról van szó.

3. *p6: A „vízjel” kifejezés egybeírva véleményem szerint egy általánosan használt, ide nem kapcsolódó szakkifejezésre utal. Javaslom a különírást.*

Elfogadom a Bíráló megjegyzését. Helyesebb a „víz rezonanciajel” kifejezés használata lenne. Az NMR spektroszkópiai kifejezések között nem ez az egyetlen eset, amikor már létezik más területhez kapcsolódó szakkifejezés (például pulzus).

4. *p6: A harmadik bekezdés nehezen olvasható. Javaslom az átfogalmazását.*

A bekezdés átfogalmazva így hangzik:

„A tapasztalat azt mutatja, hogy a kiértékelés/jelazonosítás eredményessége érdekében érdemes a különböző technikákat ötvözni. Hogy milyen mérés kivitelezhető, azt maga a fehérje/tanulmányozott rendszer is befolyásolja. A globuláris fehérjékre kifejlesztett méréseket - bizonyos kísérleti körülmények mellett rendezetlen fehérjék vizsgálatában is sikerrel

használjuk. Az általam alkalmazott mérés technikai megoldások a kísérleti részben kerülnek tárgyalásra.”

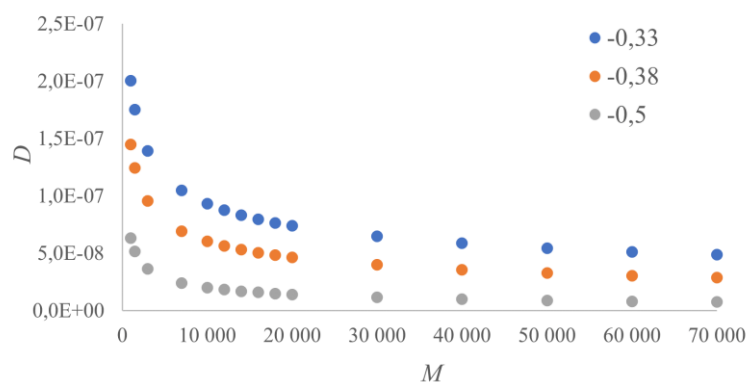
5. p7: A “szerkezeti sokaságok halmaza” kifejezés számomra redundáns jelentést hordoz. Véleményem szerint elegendő lenne a “szerkezeti sokaság”.

Egyetértek a Bírálóval, elegendő a „szerkezeti sokaság” kifejezést használni.

6. p36: Megállapítja, hogy 20 kDa móltömegnél meredeken elhajlik a  $D$ - $M$  összefüggés. Ezt „gyenge kooperatív molekuláris kölcsönhatások meglétével” magyarázza. Mit ért ez alatt? A jelölt által is felírt 5.1 Stokes-Einstein kifejezés a  $D$  és  $M$  között eleve hiperbolikus összefüggést ad meg, ami szükségszerűen ilyen típusú görbét kell adjon egyéb kölcsönhatás jelenléte nélkül is. Hogyan befolyásolná a görbét a fent említett kölcsönhatás?

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta f} \left( \frac{4\pi\rho_{\text{eff}}N_A}{3} \right)^{1/3} M^{-1/3} \quad (5.1.)$$

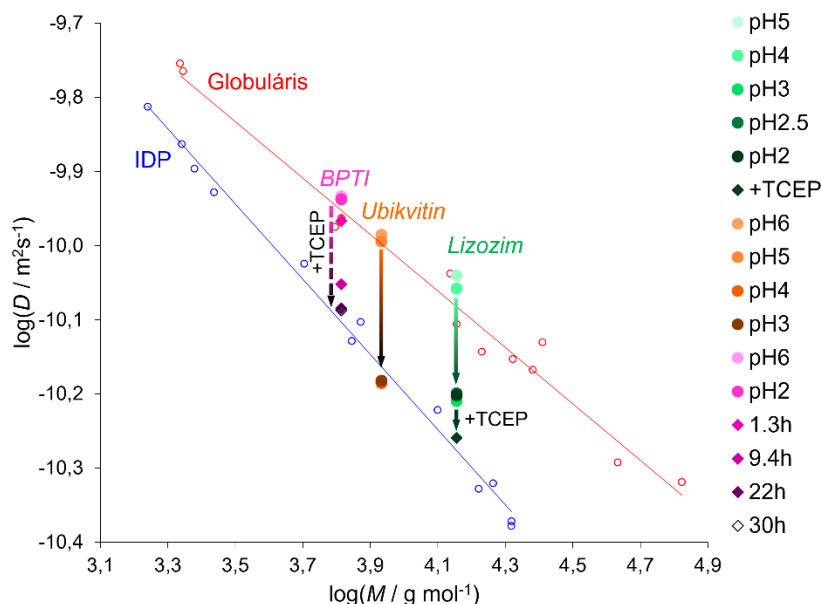
A Stokes-Einstein 5.1. összefüggés egy negatív hatványfüggvény, melynek a lecsengése függ a hatványkitevő értékétől. Az alábbi ábrán egy elméleti  $D - M^x$  lecsengést láthatunk különböző  $x$  értékekre: -0,33 (kék – a gömbszimmetrikus alakra jellemző); -0,38 (narancs – a globuláris fehérjékre kapott kitevő); -0,5 (szürke – a rendezetlen fehérjékre kapott kitevő). Egyértelműen látszik, hogy az ideális gömbszimmetrikus viselkedéstől eltérően a globuláris és rendezetlen fehérjék  $D$  értékei kis móltömeg tartományban meredekebben csökkennek. A globuláris fehérjékre kapott  $D$  értékek csökkenése 20kDa méretnél nagyobb molekuláknál lelassul. Irodalmi ismeretek alapján a nagyobb fehérjéket gyenge kooperatív molekuláris kölcsönhatások tartják össze. A hidrodinamikai paraméterekben a móltömeg növekedés csak kisebb változást fog okozni. Ezt tükrözik a mi kísérleti megfigyeléseink is, hozzáátve, hogy nagy méretű rendszerek viselkedése NMR spektroszkópiával nem tanulmányozható (vizsgálatainkban a BSA határértéknek tekinthető).



7. p36: A 5.1c ábra mutatja, hogy a karbamidos közeg nem alakít minden vizsgált fehérjét rendezetlenné a diffúziós állandó szerint. Mi ennek a magyarázata?

A dolgozatban szereplő példákban a 8M karbamid pH = 7,0 közeget jelentett. Ilyen körülmények mellett nem minden fehérje denaturálódott - megfigyeléseink szerint ezek mind diszulfid hidat tartalmazó fehérjék voltak. Egy későbbi munkánkban ennek alaposabban utánajártunk három fehérje esetében. A diszulfidhidat nem tartalmazó ubikvitinnél a teljes

denaturálás  $\text{pH} < 5$  mellett megtörténik (ábrán narancs jelöléssel). A 3 diszulfidhidat tartalmazó lizozim esetében (ábrán zöld jelöléssel)  $\text{pH} = 3$  értéknél részleges a letekeredés. TCEP hozzáadása  $\text{pH} = 2$  értéknél gyors letekeredést eredményez. A 4 diszulfid hidat tartalmazó BPTI esetében (ábrán lila jelöléssel)  $\text{pH} = 2$  értéknél sincs letekeredés, TCEP hozzáadását követően lassú denaturálás figyelhető meg:



Ezek az eredményeink közlésre is kerültek: Szabó et al. *Anal Chem.* **2022**, *94*, 7885-7891.

8. p39: Az 5.2 táblázatban kísérleti és elméleti sugarakat és azok arányait hasonlíttja össze. Az összevetéshez szerencsés lenne a kísérleti adatok szórását is figyelembe venni. A táblázat címében nincs megadva a fejléc mennyiségeinek magyarázata. Segítené az olvasót, ha nem a szövegben kellene ezeket megtalálni. Milyen adatot ad meg az utolsó oszlop?

Az 5.2. táblázatba az elrendezés miatt nem kerültek be a szórások. Az alábbi táblázat tartalmazza a szórásokkal kiegészített  $r_H^{\text{exp}}$  értékeket. A számolt alakfaktorokat (az  $r_G/r_H$  arányokat) azonban lényegesen nem befolyásolja.

Fehérje	$r_H^{\text{exp}}$ (m)
TC5b	$(10,2 \pm 0,3)E-10$
PAF	$(17,0 \pm 0,5)E-10$
ribonukleáz	$(19,6 \pm 0,1)E-10$
lizozim	$(22,9 \pm 0,4)E-10$
S100A4	$(26,4 \pm 0,4)E-10$
kimotripszinogén	$(24,2 \pm 0,5)E-10$
ovalbumin	$(35,2 \pm 1,0)E-10$
BSA	$(37,4 \pm 0,2)E-10$

Az 5.2. táblázat címe kiegészítve: Néhány kiválasztott globuláris fehérje jellemzése. A fehérje adott pdb kóddal rendelkező szerkezete alapján származtatott transzlációs diffúziós együttható ( $D^{\text{calc}}$ ), hidrodinamikai sugár ( $r_H^{\text{calc}}$ ), és girációs sugár ( $r_G^{\text{calc}}$ ) értékei.  $D^{\text{exp}}$  és  $r_H^{\text{exp}}$  az NMR mérésekből kísérletileg meghatározott mennyiségek. Az utolsó három oszlop a különböző

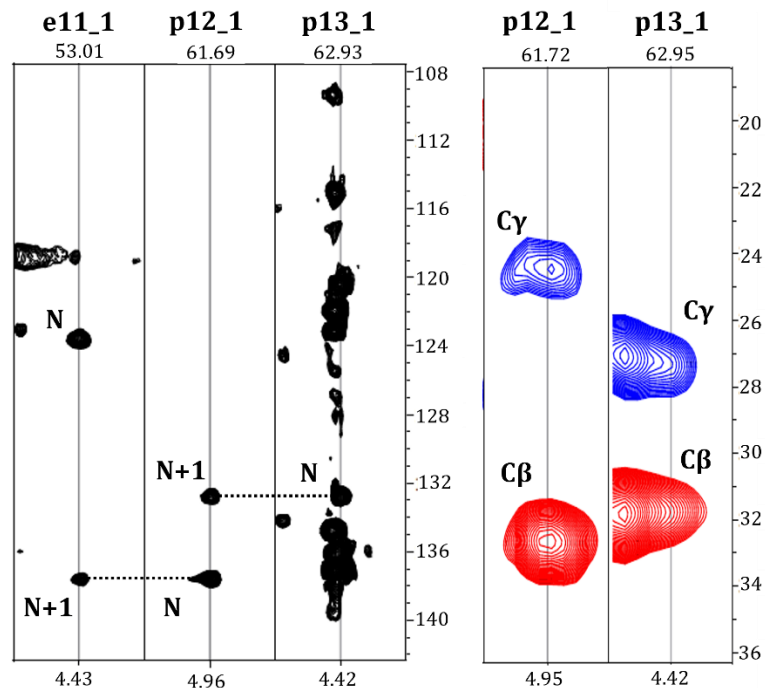
megközelítésekkel számolt alakfaktorokat ( $r_G/r_H$  arányokat) tartalmazza:  $r_G^{\text{calc}}/r_H^{\text{calc}}$ ;  $r_G^{\text{calc}}/r_H^{\text{exp}}$ . Az utolsó oszlopban található  $r_G/r_H$  számolt adatok az 5.8. egyenlet alapján számolt értékek.

9. p39: 5.2 táblázatban a számolt és kísérletes hidrodinamikai sugár értékek között nagyságrendnyi eltérés van. Mivel a diffúziós állandók viszont összevethetők, gyanús, hogy számolási hiba történt.

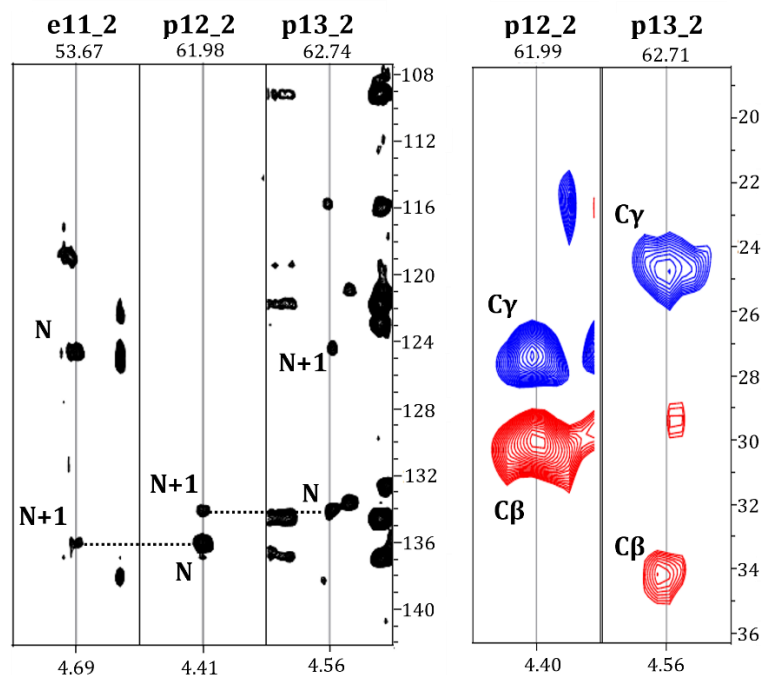
Köszönöm az észrevételt. Elírás történt, a 8. kérdés válaszában szereplő táblázat tartalmazza a helyes adatokat.

10. p47, 5.2.1-3 fejezetek: Több *cis*-konformációhoz tartozó csúcs is megfigyelhető egyazon *Pro* esetében. Milyen szerkezeti hatások vezethetnek ehhez a jelenséghez? Hosszútávú kölcsönhatások a láncon belül? Mégsem teljesen rendezetlen a fehérje?

Maga a tény, hogy a prolin környezetek esetében egyaránt detektálható *cis* és *transz* forma – illetve az aminosav szekvencia mentén ezen minor formák összeköthetők – azt sugallja, hogy mégsem teljesen rendezetlen a rendezetlen fehérje. A p53TAD<sup>1-60</sup> szekvencia egy Pro12-Pro13 motívumot tartalmaz. Itt mindkét prolin esetében egyaránt detektálható minor *cis*- és *transz*-forma. Ezek nem láncon belüli hosszútávú kölcsönhatások következményei, hanem a *cis*-Pro12-*transz*-Pro13, és *transz*-Pro12-*cis*-Pro13 minor formák:



A 3D HCAN (balra, fekete) és a szelektív 3D Pro-(H)CGCBCAHA (jobbra, színes) mérésekből származó stripek. A HCAN stripek mutatják, hogy a minor e11\_p12\_p13 (1) fragmens összeköthető; a Pro szelektív mérés pedig igazolja, hogy a minor *cis*-p12-*transz*-p13 fragmensről van szó.



A 3D HCAN (balra, fekete) és a szelektív 3D Pro-(H)CGCBCAHA (jobbra, színes) mérésekből származó stripek. A HCAN stripek mutatják, hogy a minor e11\_p12\_p13 (2) fragmens összeköthető; a Pro szelektív mérés pedig igazolja, hogy a minor *transz*-p12-*cisz*-p13 fragmensről van szó.

11. p53, 1. bek.: Érvet, hogy a *cisz*-konformáció kialakulása energetikailag és sztérikusan kedvezőtlen. Az energiaszintet befolyásoló tényezők lehetnek sztérikusak, elektrosztatikusak, stb.. A sztérikusan kedvezőtlen állapotok azért nem valósulnak meg, mert magas energiaszinthez vezetnek. Javaslom a megfogalmazás pontosítását.

Köszönöm az észrevételt, helyesen a mondat így olvasható: „Magyarázata az lehet, hogy pSer oldallánc megjelenése sztérikusan kedvezőtlen a *cisz*-prolin izomer kialakulásához.”

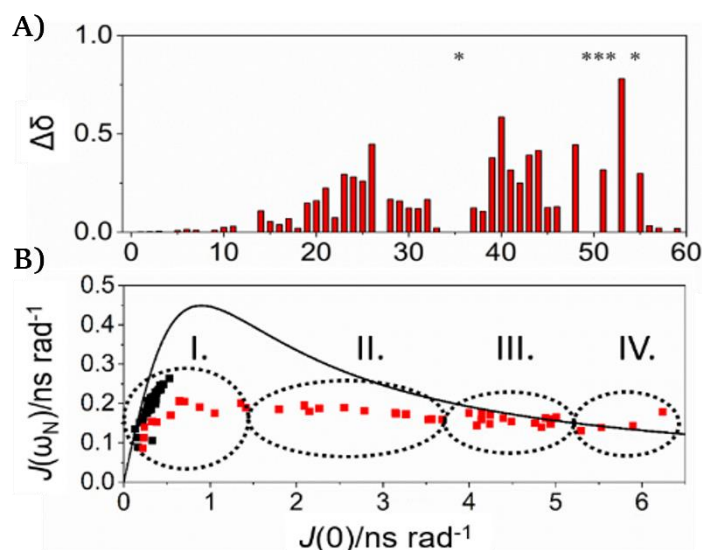
12. p54, 1. bek.: Itt találkozunk vele először, de a dolgozatban többször előfordul a “terminális vég” kifejezés. Itt redundanciát látok, mivel a “terminális” kifejezés eleve olyan szegmenst vagy aminosav maradékot jelöl, ami a lánc végén van. Javaslom a terminális és a vég szinonimaként történő használatát.

A Bíráló javaslatát elfogadom.

13. p60, 5.3.2 ábra: Az ábra annotációja és aláírása hiányos, a mérete pedig túl kicsi.

Az 5.3.2. ábra teljes annotációja: A) A p53TAD<sup>1-60</sup> jeleinek a <sup>1</sup>H,<sup>15</sup>N HSQC spektrumból számolt kumulatív kémiai eltolódás ( $\Delta\delta$ ) változása az S100A4 fehérjével történő kölcsönhatás következtében. A  $\Delta\delta$  értékek alakulása az aminosav szekvencia mentén, \* jelöli azokat az aminosavakat, ahol a kölcsönhatás következtében kiszélesedett jelek nem detektálhatóak és nem számolható érték. B) A redukált spektrális sűrűség analízis eredménye. Folytonos vonal jelöli az egy korrelált mozgással leírt görbét. Fekete négyzetek jelölik a szabad p53TAD<sup>1-60</sup> fehérjét alkotó aminosavakra számolt értékeket. A piros négyzetek ezen környezetek

viselkedését mutatják S100A4 fehérjével történő kölcsönhatás következtében, és ezek négy I-IV csoportba tömörülnek (magyarázat a szövegben).



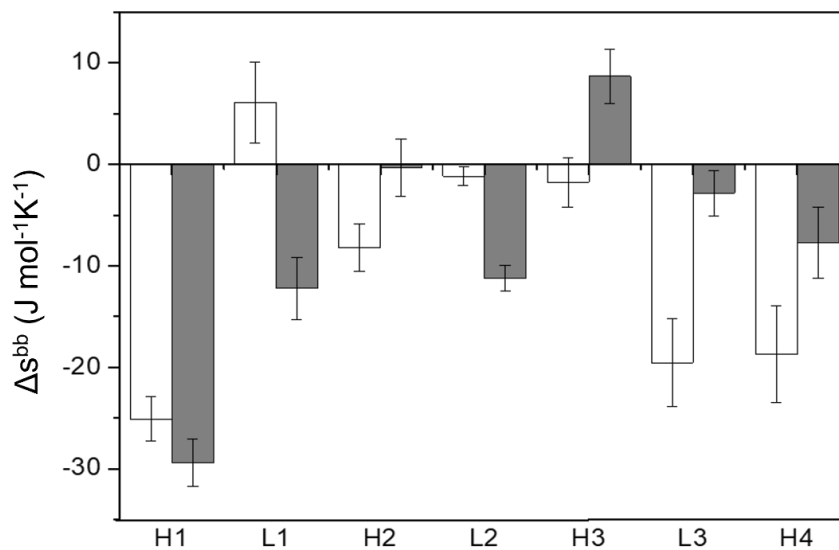
14. p61, 5.3.3 ábra aláírás: modellei -> modelljei

A Bíráló javaslatát elfogadom.

15. p67: *A gerinc entrópiaváltozásának becslése a rendparaméterből számos termodinamikai adathoz vezet, ugyanakkor lényegi következtetéshez nem jutunk általuk. Nem is könnyű ez, mivel bármilyen jóslás vagy értelmezés akkor lehetséges, ha az állapotfüggvényeket teljeskörűen tudjuk becsülni. Mi volt a célja a parciális entrópia becslésének? Az 5.3.8 ábrát is javasolom nagyítani.*

Az S100A4 homodimer és az MPT közötti komplexképződés során bekövetkező dinamikai változásokra kerestünk magyarázatokat és ehhez az S100A4 oldaláról történő gerincdinamikai analízis  $S^2$  rendparamétereit elemeztük. A gerinc entrópiaváltozásának becslése az irodalomban alkalmazott megközelítések alapján történt. A számítások azt mutatták, hogy a teljes molekula tekintetében a gerinckonformációs entrópiaváltozás  $-168,3 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ , ami a komplex merevebbé válására utal. A különböző szerkezeti elemekre is levetítve, külön-külön A és B lánc esetében (nagyított 5.3.8. ábra) azt látjuk, hogy a H1 hélixben legnagyobb a konformációs entrópiacsökkenés.

ITC mérésekből rendelkezésre állt a szabadentalpia – változás entrópia komponense  $-T\Delta S = +17,2 \text{ kJmol}^{-1}$  (300 K-en) és mindössze arra voltunk kíváncsiak ennek mekkora részét teszi ki a konformációs entrópiaváltozás. Az eredményeink megerősítik azt a más fehérjéknél is tapasztalt – és természetesnek vehető – tény, hogy a komplexképződés során az egyik partner konformációs entrópiaváltozásán túl, számos egyéb entrópiikus tényezőnek is van hozzájárulása a teljes entrópiaváltozáshoz.



**5.3.8. ábra:** A gerinckonformációs entrópiaváltozások a különböző szerkezeti elemekben: üres oszlop (S100A4 A lánc), szürke oszlop (S100A4 B lánc).

16. p68,69: *Spekulatívnak tartom a  $Ca^{2+}$  affinitás növekedésének diszkusszióját. ITC, modellezés vagy más adat nélkül nem látom az alátámasztást.*

Sok EF-kéz motívumot tartalmazó fehérje, így az S100 család esetében is leírták, hogy a célfehérjékhez való kötődésükkel párhuzamosan jelentősen növekszik a  $Ca^{2+}$ -kötésük affinitása (Mirzoeva 1999, Wright 2008 Liriano 2012, Elliott 2012). A  $Ca^{2+}$ -affinitás általában a  $\mu M$ -os tartományba esik, és az interakciós partner jelenlétében jelentős növekedés következhet be. Az S100A4 nem-izom miozin IIA-val alkotott komplexe esetében közel 10000-szeres ez a változás, az EF2-kéz  $Ca^{2+}$ -kötésének  $K_d$  értéke szabad állapotban  $5 \mu M$ , ez a komplexben  $0,5 nM$  értékre változik.

A jelenség magyarázatára az irodalomban eddig háromféle modell született: (i) a szerkezeti változásra alapuló modell, (ii) a zárt (apo) és a nyitott ( $Ca^{2+}$ -kötött) állapot közötti egyensúlyra alapuló modell, valamint (iii) a „célfehérje kötődés és funkcionális feltekeredés” modell.

Eredményeink tükrében ezt a három lehetőséget vizsgáltuk. Az (i) lehetőség azért kizárható, mert sem a kémiai eltolódások (SSP), sem a röntgenszerkezetek EF kéz aminosav környezeteinek térszerkezete nem utal szerkezeti változásra. A (ii) modell is kizárható, mivel nem detektáltunk lassú cserefolyamatra utaló  $R_{ex}$  hozzájárulást az EF-kéz  $Ca^{2+}$ -kötő aminosav környezeteiben. Mi több, irodalmi eredmények szerint  $Ca^{2+}$  hiányában az MPT nem kötődik az apo-S100A4-hez (Malashkevich 2008). Ezek alapján nem valószínű, hogy a két állapot között létezne kémiai egyensúly. (iii) A modell lényege a konformációs szelekción alapuló indukált illeszkedés („*induced fit*”). A célfehérje kötődése eltolja a konformációs egyensúlyt a nyitott formájú és nagy  $Ca^{2+}$ -affinitású állapot felé, lecsökkentve a molekula egészének mozgásait. Az eredményeink rámutatnak arra, hogy az MPT kölcsönhatás során összetett dinamikai változások történnek. A H1 hélixben megszűnnek a lassú mozgások ( $R_{ex}$  hiánya a komplexben); a gerincdinamikai értékelésből számolt rendparaméterek enyhe növekedése a gyors mozgások arányának csökkenésére utal. Például az A lánc esetében az EF2 kéz  $Ca^{2+}$ -kötő

egyes környezetei jelentősen merevebbé váltak – ami összhangban van a röntgenszerkezetekből kapott B-faktorok viselkedésével (Pálfy 2016).

Ezen megfigyelések alapján tartjuk ezt a modellt a leginkább elfogadhatónak a  $\text{Ca}^{2+}$ -affinitás növekedés magyarázatára. További alátámasztáshoz valóban MD szimuláció szükséges, ilyen irányú vizsgálatok elkezdődtek.

Megjegyezném ugyanakkor, hogy az S100B és TRTK-peptid kölcsönhatásának vizsgálata során a tapasztalt változások mértéke jóval kisebb és a szerzők a  $\text{Ca}^{2+}$ -affinitás növekedést ugyanezzel a mechanizmussal magyarázzák (Liriano 2012).

Hivatkozások:

Elliott et al. *Structure*, **2012**, 20(4), 654–666.

Liriano et al. *J. Mol. Biol.*, **2012**, 423(3), 365–385.

Malashkevich et al. *Biochemistry*, **2008**, 47(18), 5111–5126.

Mirzoeva et al. *Biochemistry*, **1999**, 38(13), 3936–3947.

Pálfy et al. *ChemBioChem*, **2016**, 17(19), 1829–1838.

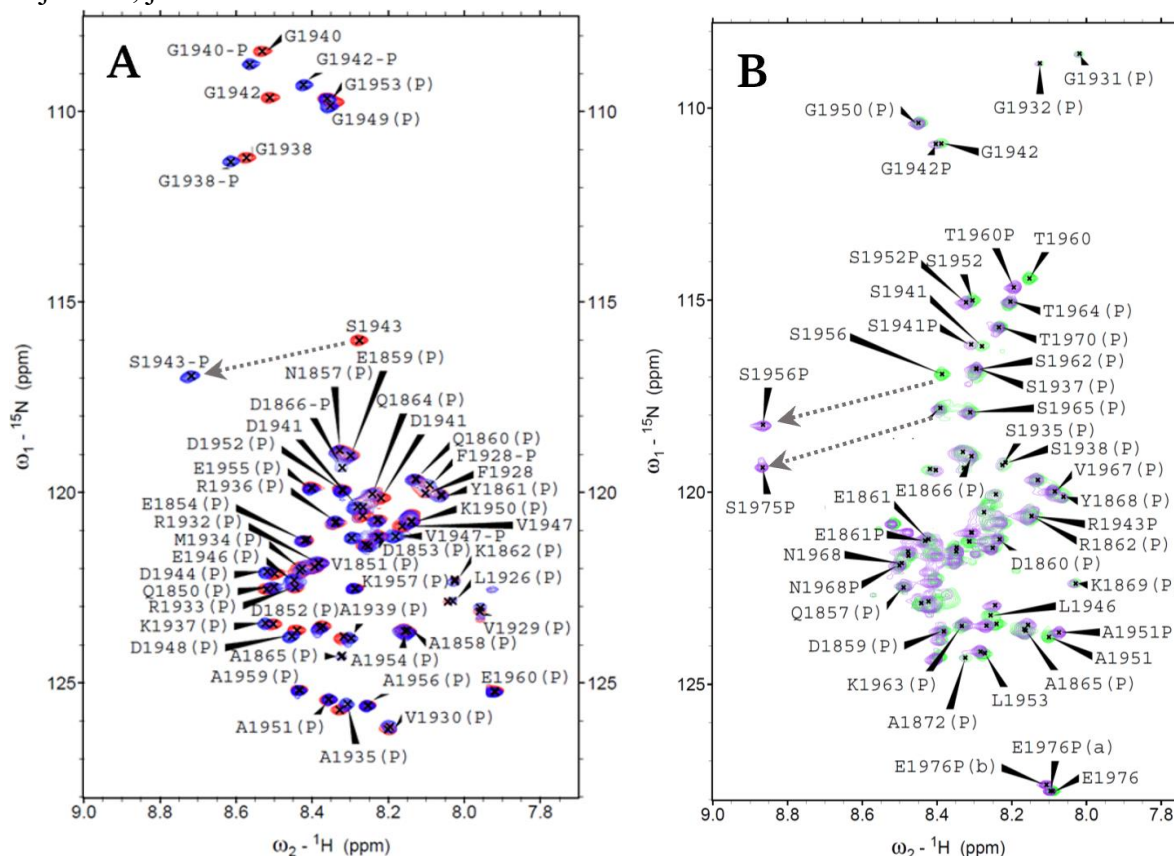
Wright et al. *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283(39), 26676–26683.

17. p71, 3. bek.: “monitorziált” Helyette és minden előfordulásnál a szövegben monitorozott vagy nyomonkövetett kifejezéseket használnám.

A Bíráló javaslatát elfogadom.

18. p71, 5.3.10 ábra: Az ábra olvashatatlanul kicsi/rossz felbontású.

A javított, jó felbontású 5.3.10A és 5.3.10B ábrák:





**5.3.10. ábra:**  $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$  HSQC spektrumok jelazonosítással, 298 K-en: A) M111A (piros) és M111A-P (kék); B) M121AB (zöld) és M121AB-P (lila). Az ábrákon a foszforilálódó Ser környezetek eltolódását nyilak jelölik.

19. p73, 2. bek.: *Aszimmetrikus kötődésnél milyen szekvencia lenne, ami a másik árkot elfoglalja? Hogyan lehet következtetni ilyen jelenségre, ha csak egyféle ligandumot titrálunk? Kooperatív kötésre utaló jelenséget talált-e?*

A homodimer dinein könnyű lánc (DLC) két kötőárral rendelkezik. Próbálkoztam annak is utánajárni, vajon lehetséges-e, hogy más-más partner foglalja el a két kötőárkot. Ezt két különböző: M7 és nNos peptiddel vizsgáltam. A kísérlet során sem aszimmetrikus kötődésre, sem kooperatív kötésre utaló jelenség nem volt tapasztalható, a jobban kötődő nNos leszorította az M7 peptidet.

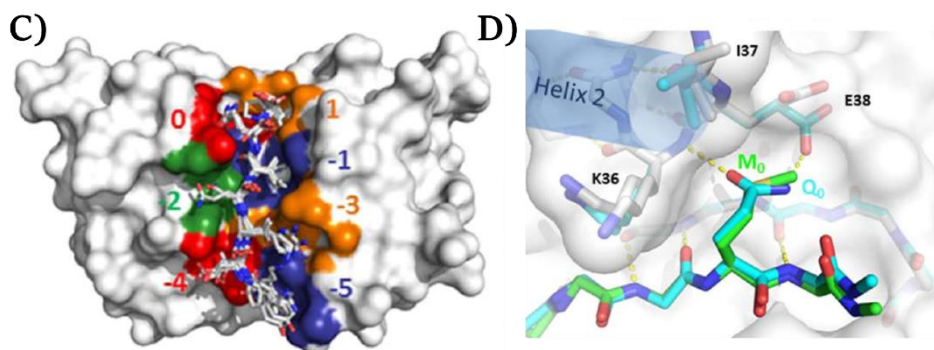
Az egyféle ligandummal történő titrálás esetében az aszimmetria kimutatható. Amint a dolgozatban is bemutattam, a DLC és M7 kölcsönhatásának vizsgálata során 50% telítés környékén a két kötőárok nem teljesen ekvivalens, ezért adott aminosavnak több jele látható a spektrumban (5.3.10C ábra). Tovább növelve a peptid tartalmat a jelenség eltűnik, a két kötőárok ismét szimmetrikussá válik. A jelenséget két különböző hosszúságú M7 fragmenssel is ki lehetett mutatni.

20. p74, 3. bek.: *M<sub>L</sub>-DLC lassú kicserélődést mutatott HSQCban. STD viszont gyors/közepes cseresebességnél működik jól. Hogyan magyarázza a sikeres STDt? Végzett-e kontroll méréseket a ligandummal a célfehérje nélkül?*

Az M<sub>L</sub>-DLC kölcsönhatás ITC módszerrel meghatározott  $K_d$  értéke  $\approx 9 \mu\text{M}$ . Az STD mérések a  $K_d$   $\mu\text{M}$  – mM tartományban jól működnek, és esetünkben alkalmasak a gyenge hidrofób kölcsönhatások érzékeny kimutatására. Természetesen minden esetben elvégeztük a célfehérjét még nem tartalmazó mintán az általában „kötelezően előírt” kontroll méréseket.

21. p76, 3. bek.: *Nehéz a diszkussziót megérteni szerkezeti ábra nélkül. Hivatkozik az 5.3.12 ábrára, de ott NMR adatot találunk.*

Az 5.3.12 ábráról lemaradt szerkezetek:



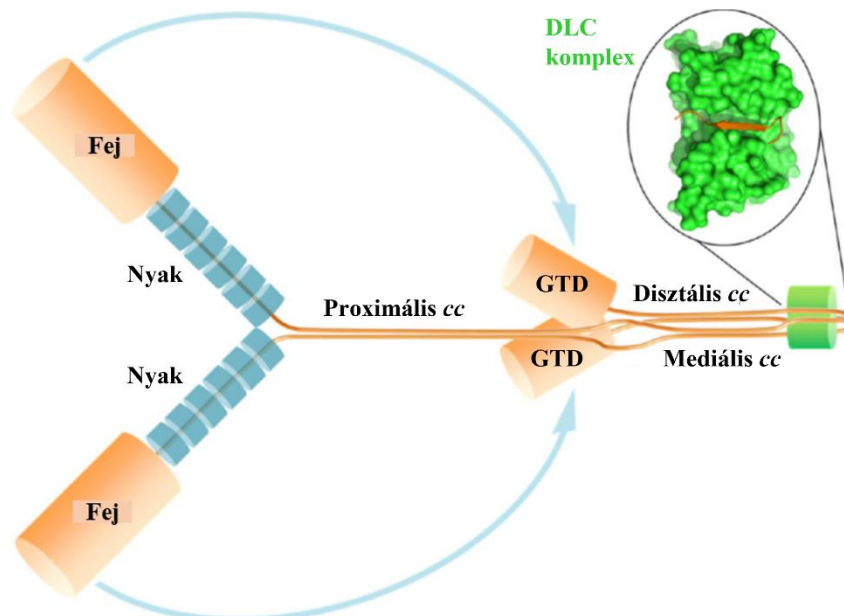
C) A DLC kölcsönhatása különböző peptidekkel. Az egymásra helyezett szerkezetek nagyon hasonló elrendeződésről tanúskodnak. A felszín a DLC - M<sub>S</sub> komplexből való (ahol M<sub>S</sub> az M<sub>L</sub> peptid rövidebb változata), a többi szerkezet pedig a következő pdb kódoknak felel meg: 3P8M, 2XQQ, 2P2T, 3ZKE, 1CMI, 4DS1, 4HT6, 3DVP, 3E2B. D) Az M<sub>S</sub> peptidben levő Met (M<sub>0</sub>)

helyzet) és a konzervált Gln (Q<sub>0</sub> helyzet, DLC-empl3 komplexből 2XQQ.pdb) hasonló konformációt mutat a kötőárokban.

22. p77, 1. bek.: A miozin Va motorfehérje működését érintő diszkusszió a szövegnek ebben a formájában spekulatívnak tűnik. Nehéz az írottakból kikövetkeztetni, hogy a túlnyúló kölcsönhatások hogyan támasztják alá a “molekuláris ragasztó” elméletet.

Az M<sub>L</sub>-DLC kölcsönhatás során kialakuló komplexben a kötőárkon túlnyúló szakaszok visszafordulásra utalnak, amit krisztallográfiai, NMR spektroszkópiái és MD eredmények is alátámasztanak. Ezeknek az adatoknak a tükrében az a feltételezésünk, hogy a DLC-vel történő kölcsönhatás a globuláris fark domén (GTD globular tail domain) irányának megfordulását eredményezi. Amennyiben ez megtörténik, úgy lehetségessé válik, hogy a hátrahajló fej domén a GTD doménnel kölcsönhatásba kerüljön.

Amint azt a dolgozatban meg is jegyeztem, további - akár a teljes biológiai rendszerrel történő - kísérletekre volna szükség annak vizsgálatára, hogy ez a feltételezés mennyire állja meg a helyét. Egyelőre erre nincs bizonyíték.



**Ábra:** A DLC komplexképződés (zölddel jelölve) okozta feltételezett változások. A világoskék nyilak a fej domén elmozdulásának irányát jelölik.

23. p81, 2. bek.: Nem figyeltem meg dUTP hidrolízist az első 6 órában. Vmilyen indukciós folyamat miatt lehet ez? Vagy csak a kimutatási határ alatt van addig a dUTP koncentrációja?

Mivel lassú reakcióról van szó, és kis mennyiségekkel dolgozunk, egy mérés időtartama hosszú (5 óra körüli). A hidrolízis kvantitatív kiértékeléséhez megbízható integrál értékek szükségesek, ennek feltétele a megfelelő jel/zaj arány. A képződött dUMP és (N)PP<sub>i</sub> jeleinek integrál értékei kezdetben kicsik, így nagyobb bizonytalansággal ugyan, de mérhetők. Indukciós folyamatról nem beszélhetünk.

24. p85, 5.5.1 táblázat: A szórások alapján a 3-as pozícióban látni szignifikáns változást, ha összevetjük a peptid nélkül és a különböző peptidekkel készített mintákat. Ugyanakkor a szórásokat figyelembe véve a 12 és 13 pozíciók esetén a különbségek nem tűnnek szignifikánsnak. Milyen adatok/számítás alapján állítja, hogy a láncvégi pozíciók esetén különbség van a minták között?

Egyetértek a Bírálóval, a 3-as pozícióban szignifikáns a változás, míg a láncvégi 12-es, 13-as pozíciókban számszerű értéket tekintve van változás, viszont ez nem tekinthető szignifikánsnak.

25. Egyéb formai megjegyzések a teljes műre vonatkozóan. Az értekezés nem következetes a mértékegységek formázásában. Javaslom a megszokott formátum alkalmazását: a mértékegységek és a számérték között legyen szóköz. Az ábrák mérete nagyon sok esetben kicsi, ami a részletgazdag és több paneles ábrázolásoknál nagyon megnehezíti az értelmezést. Az elektronikus verzióban ugyan lehetséges a nagyítás, de több esetben ilyenkor maga a digitális felbontás nem volt elegendő és homályos képet kapunk. Javaslom az ábrák méretének és felbontásának a revízióját a teljes műre.

Köszönöm a Bírálónak a dolgozat egészére vonatkozó formai megjegyzéseit. A fizikai mennyiségek előírt formátumban történő megadására, valamint az ábrák megfelelő méretezésére és felbontására a későbbiekben jobban odafigyelek.

Budapest, 2023.03.10.

Bodor Andrea, PhD.Habil.  
egyetemi docens